

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

12.5.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年 8月 7日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-288573
[ST. 10/C]: [JP2003-288573]

出 願 人
Applicant(s): 帝人株式会社

REC'D 03 JUN 2004

WIPO

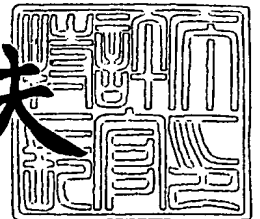
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月13日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 P37076
【提出日】 平成15年 8月 7日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C08J 9/00
C08L 67/04
A61L 31/00
A61L 27/00

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 福平 由佳子

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 北蘭 英一

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 兼子 博章

【発明者】
【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 1 2 条西 6 丁目 北海道大学 電子科学研究所 ナノテクノロジー研究センター内
【氏名】 下村 政嗣

【発明者】
【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 1 2 条西 6 丁目 北海道大学 電子科学研究所 ナノテクノロジー研究センター内
【氏名】 田中 賢

【特許出願人】
【識別番号】 000003001
【氏名又は名称】 帝人株式会社

【代理人】
【識別番号】 100099678
【弁理士】
【氏名又は名称】 三原 秀子

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 206048
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 0203001

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

生分解性ポリマーと界面活性剤からなるフィルムであって、該界面活性剤がリン脂質であることを特徴としたハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 2】

該生分解性ポリマーが生分解性脂肪族ポリエステルおよび／または生分解性脂肪族ポリカーボネートである請求項 1 に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 3】

該生分解性脂肪族ポリエステルがポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、ポリヒドロキシ酪酸、ポリカプロラクトン、ポリエチレンアジペート、ポリブチレンアジペートなどの生分解性脂肪族ポリエステルからなる群から選択される少なくとも一つのポリマーである請求項 2 に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 4】

該生分解性脂肪族ポリカーボネートがポリブチレンカーボネート、ポリエチレンカーボネートからなる群から選択される少なくとも一つのポリマーである請求項 2 に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 5】

該生分解性ポリマーがポリ乳酸であることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 6】

該リン脂質がホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールおよびそれらの誘導体からなる群から選択される請求項 1 または 2 に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 7】

該リン脂質がL- α -ホスファチジルエタノールアミンであることを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 8】

該リン脂質がL- α -ホスファチジルエタノールアミンジオレオイルであることを特徴とする請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 9】

該生分解性ポリマーと該リン脂質の組成比が1:1から1000:1であることを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載のハニカム構造を有するフィルム。

【請求項 10】

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のフィルムからなる癒着防止材。

【書類名】明細書

【発明の名称】ハニカム構造フィルム

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体適合性の高いハニカム構造を有するフィルムおよび該フィルムからなる癒着防止材に関するものである。

【背景技術】

【0002】

近年、次世代微細加工技術として、分子や微粒子の自己組織化に基づく微細構造作製法はフォトリソグラフィーやマイクロコンタクトプリンティングに代わる技術として注目を集めている。このように微細加工されたフィルムは細胞培養基材、マイクロリアクター、分離膜などへの利用が期待されている。

【0003】

自己組織化に基づく微細構造作製法により作成された細胞培養基材としては、特開 2001-157574 号公報（特許文献 1）に生分解性ポリマーおよび親水性のアクリルアミドポリマーを主鎖骨格とし、疎水性側鎖としてドデシル基を、親水性側鎖としてラクトース基或いはカルボキシ基を併せ持つ両親媒性ポリマーを 1 から 50% 添加したポリマーから作成したハニカム状フィルムからなる細胞培養基材について開示されている。

【0004】

また生体適合性の高いポリマーを使用した癒着防止材として現在では酸化セルロースからなるスポンジやニットを利用した癒着防止材やヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロースからなる癒着防止材が使用されている。

【特許文献 1】特開 2001-157574 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

然しながら、特許文献 1 で用いられている基材のポリマーは生体適合性の高いポリマーではあるが、両親媒性のポリマーは分解してアクリルアミド系化合物を生成すると予想され、当該分解物は必ずしも生体に対して安全とは言いきれない。できればこのような両親媒性ポリマーの使用量は極力低く抑えることが望ましい。

【0006】

このように生体組織へ利用する目的で微細構造を有するフィルムを使用する場合、生体適合性が大きな問題となる。そのため、使用するポリマーだけでなく微細構造を形成する為の試薬、すなわち界面活性剤も生体適合性および生体への安全性を持っていることが望まれている。そのためにはポリマーの含有量を高め、界面活性剤の使用量を抑えることが安全性の確保という観点からも望ましく生体に対して安全な素材を用いた癒着防止材の出現が望まれている。

【0007】

これに対して現在では、前述のように酸化セルロースからなるスポンジやニットを利用した癒着防止材やヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロースからなる癒着防止材が使用されているが、酸化セルロースからなる癒着防止材は繊維素細胞が空隙を通過して移動しやすいため、癒着を引き起こすという問題を抱えている。またヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロースからなる癒着防止材はこのような欠点が改善されているものの、用いられている素材そのものが非常に吸水性に富むので、手術具に付着した水分や患部以外の水分と反応して接着してしまうなど実際に使用する際の操作性に問題があった。

【0008】

そこで本願発明では、細胞培養の基材となるフィルムであって、再生医療など生体組織への適用のための生体適合性が高く、良好な取扱い性を有するフィルムを得ることを目的としている。

【課題を解決するための手段】**【0009】**

本発明者らは、このような要望を考えて、鋭意努力した結果、リン脂質を界面活性剤として生分解性ポリマーに配合し、これを高湿度下にキャストすることにより、細胞培養の基材として有用であり、生体適合性に優れたハニカム構造を有するフィルムが得られること、さらに当該フィルムが手術部位等の癒着防止に効果があることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0010】

リン脂質は生体膜系を構成している物質であり、元来、生体内にあるため、生体適合性が高く、ドラッグデリバリーシステムにも利用されている物質であり安全性も高いことが知られている。さらに、本発明で界面活性剤として使用するリン脂質は容易に手に入れることができる。

【発明の効果】**【0011】**

本発明の界面活性剤は生体成分の一種であるリン脂質を使用しているため、生体に対する適合性が高い。また、界面活性剤の量も少量でよいため、経済性も高く、より生分解性ポリマーの含有量が多いハニカム構造を有するフィルムを得ることができる。また当該ハニカム構造を有するフィルムは癒着防止材として有効であり、従来の癒着防止材と比較しても癒着防止効果、取り扱い性の点で優れている。

【発明を実施するための最良の形態】**【0012】**

本発明における生分解性フィルムを作製するために用いる生分解性ポリマーとしてはポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、ポリヒドロキシ酪酸、ポリカプロラクトン、ポリエチレンアジペート、ポリブチレンアジペートなどの生分解性脂肪族ポリエステル、ポリブチレンカーボネート、ポリエチレンカーボネート等の脂肪族ポリカーボネート等が、有機溶媒への溶解性の観点から好ましい。中でも、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、ポリカプロラクトンが入手の容易さ、価格等の観点から望ましい。

【0013】

本発明に用いるリン脂質は、動物組織から抽出したものでも、また人工的に合成して製造したものでもその起源を問うことなく使用できる。リン脂質としてはホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールおよびそれらの誘導体からなる群から選択されてなるものを利用することが望ましい。好ましくはホスファチジルエタノールアミンであり、さらに好ましくはL- α -ホスファチジルエタノールアミンジオレオイルである。

【0014】

本発明のハニカム構造を有するフィルムを作製するに当たってはポリマー溶液上に微小な水滴粒子を形成させることが必須であることから、使用する有機溶剤としては非水溶性である必要がある。これらの例としてはクロロホルム、塩化メチレン等のハロゲン系有機溶剤、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素、酢酸エチル、酢酸ブチル等のエステル類、メチルイソブチルケトン、などの非水溶性ケトン類、二硫化炭素などが挙げられる。これらの有機溶媒は単独で使用しても、又、これらの溶媒を組み合わせた混合溶媒として使用してもかまわない。

【0015】

これらに溶解する生分解性ポリマーとリン脂質両者併せての溶液濃度は0.01から10wt%、より好ましくは0.05から5wt%である。ポリマー濃度が0.01wt%より低いと得られるフィルムの力学強度が不足し望ましくない。又、10wt%以上では溶液濃度が高くなりすぎ、十分なハニカム構造が得られない。又、生分解性ポリマーとリン脂質の組成比は重量比で1:1から1000:1(wt/wt)である。リン脂質が生分解性ポリマーにたいして1000分の1以下では均一なハニカム構造が得られず、又、該重量比が1:1以上ではフィルムとしての自己支持性を有しておらず、コストも高く、経済性に乏しいため

好ましくない。

【0016】

本発明においては該ポリマー有機溶媒溶液を基板上にキャストしハニカム構造フィルムを調製するが、該基板としてはガラス、金属、シリコンウェハー等の無機材料、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリエーテルケトン等の耐有機溶剤製に優れた高分子、水、流動パラフィン、液状ポリエーテル等の液体が使用できる。中でも、基材に水を使用した場合、該ハニカム構造体の特徴である自立性を生かすことで、該構造体を単独で容易に基板から取り出すことが出来、好適である。

【0017】

本発明で、ハニカム構造が形成される機構は次のように考えられる。疎水性有機溶媒が蒸発するとき、潜熱を奪う為に、キャストフィルム表面の温度が下がり、微小な水の液滴がポリマー溶液表面に凝集、付着する。ポリマー溶液中の親水性部分の働きによって水と疎水性有機溶媒の間の表面張力が減少し、このため、水微粒子は凝集して1つの塊になろうとし、安定化する。溶媒が蒸発するに伴い、ヘキサゴナルの形をした液滴が最密充填した形で並び、最後に、水が飛び、ポリマーが規則正しくハニカム状に並んだ形として残る。従って、該フィルムを調製する環境としては相対湿度が50から95%の範囲にあることが望ましい。50%以下ではキャストフィルム上への結露が不十分になり、又、95%以上では環境のコントロールが難しく好ましくない。このようにしてできるハニカム構造体中個々のハニカムの空隙内径は0.1から100 μ mである。このようにして作製したハニカム構造フィルムは、表面がハニカム構造を有し、膜厚が充分厚い場合は、基盤に接していた裏面は孔が貫通していない平らな面となる。また、膜厚が水滴の大きさよりも薄い場合は孔が貫通したフィルムが得られる。使用目的により、貫通または非貫通膜を選択することが望ましい。

【実施例】

【0018】

以下、実施例により本発明の実施の形態を説明するが、これらは本発明の発明を制限するものではない。

【0019】

[実施例1]

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5 g/L)に界面活性剤としてホスファチジルエタノールアミン—ジオレオイルを10:1の割合で混合し、ガラス基板上にキャストし室温、湿度70%の条件下に静置し、溶媒を徐々に飛ばすことでハニカム構造を有するフィルムを調製した。こうして得られた構造体中のハニカム構造を構成する個々の孔の空隙内径の大きさは約5 μ mで、膜厚は13 μ mであり、非貫通フィルムであった。フィルムは白濁していた。ポリ乳酸フィルムは一般のキャスト法で作成すると無色透明であるが、本発明のようにハニカム構造を有すると光の散乱により、フィルムは白濁する。SEM写真を図1に示す。

【0020】

[実施例2]

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5 g/L)に界面活性剤としてホスファチジルエタノールアミン—ジオレオイルを200:1の割合で混合し、ガラス基板上にキャストし室温、湿度70%の条件下に静置し、溶媒を徐々に飛ばすことでハニカム構造を有するフィルムを調製した。こうして得られた構造体中のハニカム構造を構成する個々の孔の空隙内径の大きさは約5 μ mで、膜厚は13 μ mであり、非貫通フィルムであった。フィルムは白濁していた。このことから実施例1と同様にハニカム構造が生じていることが判る。SEM写真を図2に示す。

【0021】

[実施例3]

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5 g/L)に界面活性剤としてホスファチジルエタノールアミン—ジオレオイルを800:1の割合で混合し、ガラス基板上

にキャストし室温、湿度70%の条件下に静置し、溶媒を徐々に飛ばすことでハニカム構造を有するフィルムを調製した。こうして得られた構造体中のハニカム構造を構成する個々の孔の空隙内径の大きさは約 $5\mu\text{m}$ で、膜厚は $1.3\mu\text{m}$ であり、非貫通フィルムであった。フィルムは白濁していた。このことから実施例1と同様にハニカム構造が生じていることが判る。光学顕微鏡写真を図3に示す。

【0022】

[比較例1]

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5g/L)を実施例1と同様の方法でハニカム構造を有するフィルムの作製を試みた。しかし、ハニカム構造は形成されず、不均一なフィルムが作製された。

【0023】

[比較例2]

ホスファチジルエタノールアミン-ジオレオイルのクロロホルム溶液(5g/L)を実施例1と同様の方法でハニカム構造体の作製を試みた。しかし、フィルムは作製できず、自己支持性も有していなかった。

【0024】

本願発明の生体の癒着防止効果を確認するために、ラットの腹腔内癒着モデルを用いて実験を行った。

【0025】

腹腔内癒着モデルは、ラットをペントバルビタールナトリウム(30mg/kgネンブタール注射液、大日本製薬(株))の腹腔内投与麻醉下で背位に固定し、腹部を剃毛した後、消毒用エタノールで消毒し、さらにイソジン消毒液で手術領域を消毒した後、腹部正中線に沿って3~4cm切開して盲腸を露出させた。露出させた盲腸の一定の面積(1~2cm²)について、滅菌ガーゼを用いて点状出血が生じるまで擦過した。盲腸を腹腔内に戻した後、癒着防止材を貼付し、切開部の筋層は連続縫合し、皮膚は4~5針縫合した。創傷部をイソジン消毒液で消毒した後、ケージに戻した。

【0026】

術後7日にラットをペントバルビタールナトリウム麻醉下で開腹し、腹腔内癒着の程度を肉眼的に観察し、以下に示す基準に従ってスコア化した。

[グレード分類]

グレード0(スコア0):癒着が認められない状態。

グレード1(スコア1):細くて容易に分離できる程度の癒着。

グレード2(スコア2):狭い範囲ではあるが、軽度の牽引に耐えられ得る程度の弱い癒着。

グレード3(スコア3):かなりしっかりとした癒着あるいは少なくとも2箇所癒着が認められる状態。

グレード4(スコア4):3箇所以上に癒着が認められる状態。

実施例と比較例を以下に示す。

【0027】

[実施例4]

実施例2で得られたフィルムを用いて生体の癒着防止効果を確認した。

【0028】

[比較例3]

上記、腹腔内癒着モデルと同様な手順で癒着防止材を用いずに縫合した。

【0029】

[比較例4]

セプラフィルム(ヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロース、厚さ約 $55\mu\text{m}$ 、科研製薬(株))を用いて腹腔内癒着モデルを実施した。

【0030】

各動物の腹腔内癒着の程度をグレード分類に従ってスコア化し、結果はその平均値±標準

準誤差 (mean±S.E.) で表記したものを表1に示す。

【0031】

【表1】

腹腔内癒着モデル評価結果

Drug	Animal No.	Score
実施例4	301	0
	302	2
	ハニカムフィルム	1
	PLA:PE=200:1	3
	305	2
	Mean	1.6
	±S.E.	0.5
比較例3	101	4
	102	2
	対照群	3
	(フィルムなし)	3
	105	3
	Mean	3.0
	±S.E.	0.3
比較例4	201	1
	202	4
	陽性対照群	1
	(セプラフィルム)	3
	205	0
	Mean	1.8
	±S.E.	0.7

【0032】

比較例3 (フィルムなし) の平均癒着スコアは、 3.0 ± 0.3 であった。これに対し、実施例4の平均癒着スコアは 1.6 ± 0.5 となり、比較例3と比較して癒着スコアの減少が観察された。同様に比較例4 (セプラフィルム) の癒着スコア (1.8 ± 0.7) と比較しても癒着スコアの減少が観察された。

【0033】

本願発明の癒着防止材は、癒着防止材を用いない場合に比べ明らかな効果がある。また現在実用化されている比較例4のフィルムに比べても癒着防止に効果がある上に、比較例4のフィルムのような接着性は示さないのが取り扱いが容易である。

【産業上の利用可能性】

【0034】

本願発明のハニカム構造を有するフィルムは細胞培養の基材や再生医療用途、または癒着防止材として生体への適用が可能である。

【図面の簡単な説明】

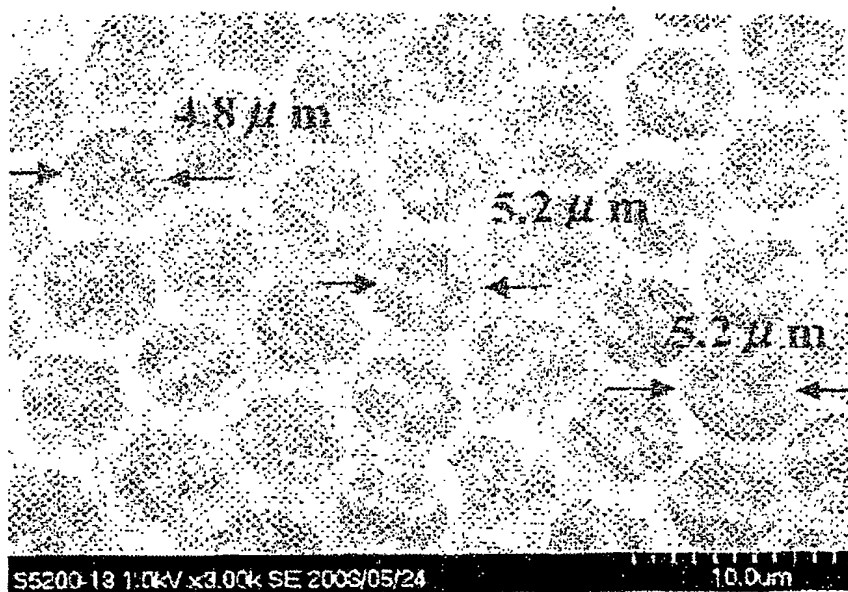
【0035】

【図1】 実施例1で得られたハニカム構造を有するフィルムの電子顕微鏡写真である

- 。 【図 2】 実施例 2 で得られたハニカム構造を有するフィルムの電子顕微鏡写真である
- 。 【図 3】 実施例 3 で得られたハニカム構造を有するフィルムの電子顕微鏡写真である
- 。

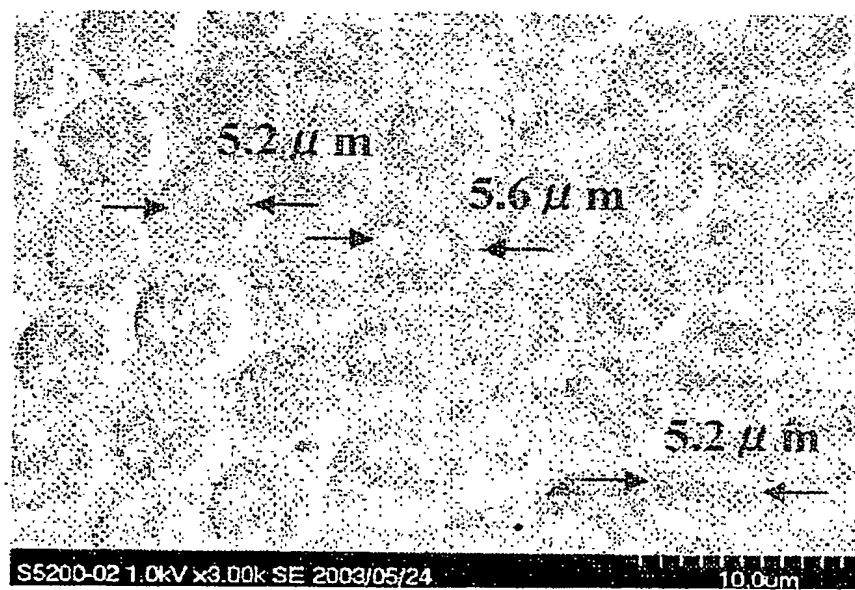
【書類名】 図面

【図 1】

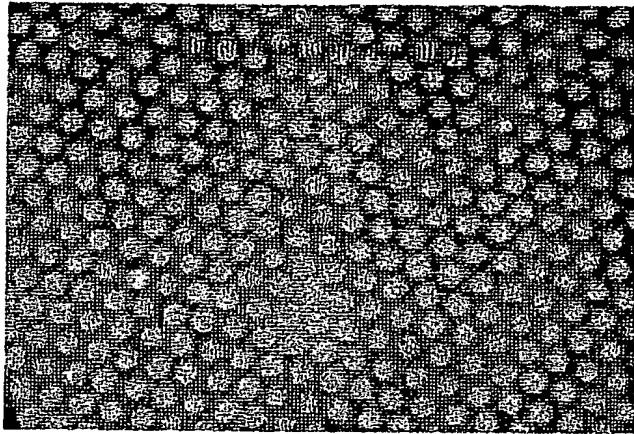


BEST AVAILABLE COPY

【図 2】



【図 3】



10 μ m

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 細胞培養の基材となるフィルムであって、再生医療など生体組織への適用のための高い生体適合性を有するフィルムおよび該フィルムからなる癒着防止材を得る。

【解決手段】 生分解性ポリマーと界面活性剤からなるフィルムであって、該界面活性剤がリン脂質であることを特徴としたハニカム構造を有するフィルムと該フィルムからなる癒着防止材を提供する。

【選択図】 図 1

特願 2003-288573

ページ： 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000003001]

1. 変更年月日

1990年 8月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号

氏 名

帝人株式会社